

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: **62106017 A**

(43) Date of publication of application: 16 . 05 . 87

(51) Int. Cl

A61K 31/35**// C07D311/34**

(21) Application number: 60245509

(22) Date of filing: 01 . 11 . 85

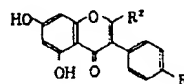
(71) Applicant: **YAMANOUCHI PHARMACEUT CO
LTD OGAWARA HIROSHI**(72) Inventor: **OGAWARA HIROSHI
WATANABE SHUNICHI
ITO TOKUKI****(54) ANTI-TUMOR AGENT****(57) Abstract:**

PURPOSE: To provide an anti-tumor agent containing 5,7-dihydroxy-4'-substituted- isoflavone-2-carboxylic acid or its ethyl ester as an active component and having strong oncogene-originated tyrosine-specific phosphorylase-inhibiting activity.

CONSTITUTION: The

5,7-dihydroxy-4'-substituted-isoflavone-2-carboxylic acid of formula (R^1 is OH or methoxy; R^2 is carboxyl or ethoxycarbonyl) or its ethyl ester is used as an anti-tumor agent. The compound of formula I e.g. 5,7-dihydroxy-4'-methoxyisoflavone-2-carboxylic acid.

The compound of formula strongly inhibits oncogene-originated tyrosine-specific phosphorylase which is suspected to participate in then canceration of normal cell and the proliferation of cancer cell. Accordingly, the agent is useful for the prevention of carcinogenesis and remedy of cancer.



COPYRIGHT: (C)1987,JPO&Japio

⑨ 日本国特許庁 (J P)

⑩ 特許出願公開

⑪ 公開特許公報 (A)

昭62-106017

⑫ Int. Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 昭和62年(1987)5月16日

A 61 K 31/35
C 07 D 31/34

ADU

6640-4C

審査請求 未請求 発明の数 1 (全3頁)

⑭ 発明の名称 抗腫瘍剤

⑮ 特 願 昭60-245509

⑯ 出 願 昭60(1985)11月1日

⑰ 発 明 者	小 河 原 宏	東京都文京区湯島2-33-9
⑱ 発 明 者	渡 辺 俊 一	大宮市大字蓮沼869-3
⑲ 発 明 者	伊 藤 徳 樹	岩槻市大字黒谷1017-12
⑳ 出 願 人	山之内製薬株式会社	東京都中央区日本橋本町2丁目5番地1
㉑ 出 願 人	小 河 原 宏	東京都文京区湯島2-33-9
㉒ 代 理 人	弁護士 藤野 清也	外1名

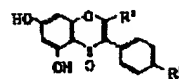
明 細 書

1. 発明の名称

抗腫瘍剤

2. 特許請求の範囲

1. 一般式



(式中、R¹は 水酸基 またはメトキシ基を、

R²は カルボキシ基またはエトキシカルボニル基

を意味する。)

で示される 5,7-ジヒドロキシ-4'-イソフラボン-2-カルボン酸またはそのエステルエ

2. 5,7-ジヒドロキシ-4'-メトキシイソフラボン-2-カルボン酸を有効成分とする特許請求の範囲第1項記載の抗腫瘍剤

3. 5,7,4'-トリヒドロキシイソフラボン-2

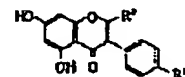
-カルボン酸を有効成分とする特許請求の範囲第1項記載の抗腫瘍剤

4. 5,7,4'-トリヒドロキシイソフラボン-2-カルボン酸のエステルエステルを有効成分とする特許請求の範囲第1項記載の抗腫瘍剤

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、一般式



(I)

(式中、R¹は 水酸基またはメトキシ基を、

R²は カルボキシ基またはエトキシカルボニル基

を意味する。)

で示される 5,7-ジヒドロキシ-4'-置換イソフラボン-2-カルボン酸またはそのエステルエステルを有効成分とする抗腫瘍剤に関する。

(従来の技術)

上記一般式で示される化合物は、R¹がノトキシ基で且つR²がニトキシカルボニル基である化合物を除き、ジャーナル・オブ・ザ・ケミカル・ソサエティー (Journal of the Chemical Society) 1852~1859頁、1953年に記載されている公知化合物である。同文献は、イソフラボン化合物の新しい合成方法を報告しているので、イソフラボン化合物の薬理作用、殊に抗腫瘍作用については全く報告していない。

(発明の作用および効果)

本発明者等は、上記一般式で示される化合物が、強い癌遺伝子由来チロシン特異的リン酸化酵素阻止作用を有することをつきとめ、本発明を完成した。癌遺伝子の中でチロシン特異的リン酸化酵素が関係して発癌または癌細胞増殖とされている癌遺伝子Kは、つぎのようなウイルス由来癌遺伝子がある。

ニフトリラウス肉腫ウイルス (R₁), ニフトリラウス肉腫ウイルス (R₂), ニコガードナーラウス

肉腫ウイルス (igr), ネコスナイダータイレン肉腫ウイルス (tes), ニフトリ腫瘍肉腫ウイルス (ps), ニフトリ腫瘍球状ウイルス (erb^B), マウスアベルソン白血病ウイルス (abl), マウスモロー肉腫ウイルス (mos), ラット神経芽腫ウイルス (nec)。さらに、上記癌遺伝子が、人間のいろいろな癌においても発現されていることが報告されている(たとえば、サイエンス、224巻、256頁、1984年)。

このように、癌遺伝子由来チロシン特異的リン酸化酵素活性は、正常細胞の癌化および癌細胞の増殖に関与すると考えられているので、その酵素活性を特異的に阻止できる化合物は、発癌の予防および癌治療に有用である。

以下、本発明の化合物の癌遺伝子由来チロシン特異的リン酸化酵素阻止作用および癌性を説明する。

① 癌遺伝子由来チロシン特異的リン酸化酵素阻止作用

測定方法:

ヒト上皮性癌細胞増殖因子受容体 (EGF レセプター、A431細胞) チロシン特異的リン酸化酵素活性の測定法 (エス・コウエン、ジ・カーペンター、エル・キング; ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー 255巻、1831~1842頁 1980年参照)

EGFレセプターを多量に含むことの知られているヒト上皮性癌細胞 (A431細胞) より調製した細胞膜を酵素源として用いた。50μl 中 KCl, 20mM Pipes-NaOH pH 7.2, 10mM MgCl₂, 3mM MnCl₂, 1mM DTT, 10μM [³²P] ATP (2mCi/mmol), A431細胞細胞膜 (タンパク量 10μg) 及び上記化合物 (1) を含む反応液を5分間反応させたのち、反応を停止させ、反応液を8%ポリアクリルアミドゲル電気泳動-オートラジオグラフィで解析して、分子量 17万のEGFレセプターのリン酸化の有無を調べる。さらにそのEGFレセプターを切り出し、液体シンチレーション・カウンタで放射能を

測定することにより、リン酸化の程度を定量的にした。

なお、A431細胞からの細胞膜調製はつぎの如く行った。

7%牛胎児血清 (ギブコ社製) を含むダルベッコのMEM (日本水産物製) 培地で培養したA431細胞を集め、コーエンらの方法 (スタンレイ・コーエン、ヒロシ・ウシロ、クリスタ・ストツェック、ミカエル・テンカーズ; ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー、257巻、1523-1531頁 1982年参照) により細胞膜小胞を調整した。

測定結果:

化合物 (1) のチロシン特異的リン酸化酵素に対する阻止作用

測定化合物	阻止作用 ID ₅₀ (μM/ml)
A	100
B	20
C	20

(従来の技術)

上記一般式で示される化合物は、Rがニトキシ基で且つR'がニトキシカルボニル基である化合物を除き、ジャーナル・オブ・ザ・ケミカル・ソサエティー (Journal of the Chemical Society) 1852~1859頁、1953年に記載されている公知化合物である。同文献は、インフラボン化合物の新しい合成方法を報告しているので、インフラボン化合物の薬理作用、殊に抗腫瘍作用については全く報告していない。

(発明の作用および効果)

本発明者等は、上記一般式で示される化合物が、強い癌遺伝子由来チロシン特異的リン酸化酵素阻止作用を有することをつきとめ、本発明を完成した。癌遺伝子の中でチロシン特異的リン酸化酵素が関係して発癌または癌細胞増殖とされている癌遺伝子には、つぎのようなウイルス由来癌遺伝子がある。

ニフトリラウス肉腫ウイルス (frc), ニフトリ Y73 肉腫ウイルス (fes), ニコガードナーラウシー

肉腫ウイルス (igr), ネコスナイダータイレン肉腫ウイルス (tes), ニフトリ腫瘍肉腫ウイルス (tpe), ニフトリ赤芽球症ウイルス (erb B), マウスペルソン白血病ウイルス (spl), マウスモロニー肉腫ウイルス (mos), ラット神経芽腫ウイルス (nsv)。さらに、上記癌遺伝子が、人間のいろいろな癌においても発現されていることが報告されている (たとえば、サイエンス、224巻、256頁、1984年)。

このように、癌遺伝子由来チロシン特異的リン酸化酵素活性は、正常細胞の癌化および癌細胞の増殖に関与すると考えられているので、その酵素活性を特異的に阻止できる化合物は、発癌の予防および癌治療に有用である。

以下、本発明の化合物の癌遺伝子由来チロシン特異的リン酸化酵素阻止作用および毒性を説明する。

① 癌遺伝子由来チロシン特異的リン酸化酵素阻止作用

測定方法：

ヒト上皮性癌細胞増殖因子受容体 (EGF レセプター、A431細胞) チロシン特異的リン酸化酵素活性の測定法 (エス・コウエン、ジイ・カーペンター、エル・キング；ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー 255巻、4831~4842頁、1980年参照)

EGFレセプターを多量に含むことの知られているヒト上皮性癌細胞 (A431細胞) より調製した細胞膜を酵素源として用いた。50μl 中 K₂ 20mM Pipes-NaOH pH 7.2, 10mM MgCl₂, 3mM MnCl₂, 1mM DTT, 10μM [³²P] ATP (2mCi/μmol), A431細胞細胞膜 (タンパク量 10μg) 及び上記化合物 (I) を含む反応液を5分間反応させたのち、反応を停止させ、反応液を8%ポリアクリルアミドゲル電気泳動-オートラジオグラフィで解析して、分子量 17万のEGFレセプターのリン酸化の有無を調べる。さらにそのEGFレセプターを切り出し、液体シンチレーションカウンターの放射能を

測定することにより、リン酸化の程度を定量化した。

なお、A431細胞からの細胞膜調製はつぎの如く行った。

7%牛胎児血清 (ギブコ社製) を含むダルベッコのMEM (日本水産物製) 培地で培養したA431細胞を集め、コーエンらの方法 (スタンレイ・コーエン、ヒロシ・ウシロ、クリスタ・ストツェック、ミカエル・チンカーズ；ジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー、257巻、1523-1531頁、1982年参照) により細胞膜小胞を調整した。

測定結果：

化合物 (I) のチロシン特異的リン酸化酵素に対する阻止作用

測定化合物	阻止作用 10 ⁻⁵ (μM/ml)
A	100
B	20
C	20